Gülhane Tıp Dergisi 2009; 51: 137-140

© Gülhane Askeri Tıp Akademisi 2009

Kronik miyeloproliferatif hastalık ve miyelodisplastik sendrom olgularında *Jak2 V617F* mutasyonu

Salih Kozan (*), Şefik Güran (**), Muhterem Bahçe (*), Kürşat Kaptan (***), Ahmet İfran (***), A.Avni Atay (****), A.Emin Kürekçi (****), Cengiz Beyan (***)

ÖZET

Kronik miyeloproliferatif hastalıklarda *JAK2* geni *V617F* mutasyonunun önemli olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda kronik miyeloproliferatif hastalık ve miyelodisplastik sendromlu olgularda *JAK2 V617F* mutasyon sonuçları sunulmaktadır. Çalışma kronik miyeloproliferatif hastalık ve miyelodisplastik sendrom tanısı konulan 22 olgu (yedi polisitemia vera, üç esansiyel trombositemi, üç kronik miyelositer lösemi, beş sınıflandırılamayan tip kronik miyeloproliferatif hastalık, üç miyelodisplastik sendrom ve bir juvenil miyelomonositik lösemi) ile 10 kontrol olgusunda (yedi sekonder eritrositoz ve üç reaktif trombositoz) gerçekleştirildi. Yedi polisitemia veralı olgudan altısında (%85.7) mutasyon tespit edildi. Yedi sekonder eritrositoz olgusunda mutasyon tanımlanmadı. Üç esansiyel trombositemi olgusundan birisinde (%33.3) mutasyon bulundu. Üç reaktif trombositoz olgusunda ve üç kronik miyelositer lösemi olgusunda mutasyon bulunmadı. Beş sınıflandırılamayan tip kronik miyeloproliferatif hastalık olgusundan birisinde (%20) *JAK2 V617F* mutasyonu saptandı. Üç miyelodisplastik sendromlu olgu ile juvenil miyelomonositik lösemili olguda mutasyon gösterilmedi. Sonuç olarak, *JAK2 V617F* mutasyonunun araştırılması kronik miyeloproliferatif hastalık düşünülen olgularda özellikle polistemia vera ile sekonder polisteminin ayırıcı tanısında önemli olarak görünmektedir.

Anahtar kelimeler: *Esansiyel trombositemi, JAK2 V617F mutasyonu, miyelofibrozis, miyeloproliferatif hastalık, polistemia vera*

SUMMARY

***JAK2 V617F* mutation in cases with chronic myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndrome**

JAK2 gene *V617F* mutation is reportedly important in chronic myeloproliferative diseases. In this study results of *JAK2 V617F* mutation in cases with chronic myeloproliferative disease and myelodysplastic syndrome are presented. The study was conducted with 22 patients diagnosed to have chronic myeloproliferative disease and myelodysplastic syndrome (seven polycythemia vera, three essential thrombocythemia, three chronic myelocytic leukemia, five unclassified chronic myeloproliferative disease, three myelodysplastic syndrome and one juvenile myelomonocytic leukemia) and with 10 control cases (seven secondary erytrocytosis and three reactive thrombocythosis). The mutation was detected in six out of seven polycythemia vera cases (85.7%). No mutation was detected in seven cases with secondary erytrocytosis. In one out of the three essential thrombocythemia cases (33.3%), the mutation was detected. No mutation was found in three cases with reactive thrombocythosis and in three cases with chronic myelocytic leukemia. In one out of five cases with unclassified chronic myeloproliferative disease (20%), the *JAK2 V617F* mutation was positive. No mutation was detected in three cases with myelodysplastic syndrome and juvenile myelomonocytic leukemia. As a result, determination of the *JAK2 V617F* mutation seems to be important in patients suspected to have chronic myeloproliferative disease, especially in the differential diagnosis of polycythemia vera and secondary polycythemia.

Key words: *Essential thrombocythemia, JAK2 V617F mutation, myelofibrosis, myeloproliferative disease, polycythemia vera*

** GATF Tıbbi Genetik BD
** GATF Tıbbi Biyoloji AD
*** GATF Hematoloji BD
**** GATF Çocuk Hematolojisi BD

Ayrı basım isteği: Dr. Şefik Güran, GATF Tıbbi Biyoloji AD, Etlik-06018, Ankara
E-mail: sefguran@yahoo.com

Makalenin geliş tarihi: 10.01.2009 • **Kabul tarihi:** 01.06.2009

Giriş

Kronik miyeloproliferatif hastalıklar (Kronik MPH) multipotent kök hücrelerin bir veya birkaç kan hücre serisinde aşırı çoğalması ile karakterize hastalık tablolarıdır. Bu hastalıklar polisitemia vera (PV), esansiyel trombositemi (ET) ve primer miyelofibrozis olmak üzere üç ana başlık altında toplanmaktadır (1).

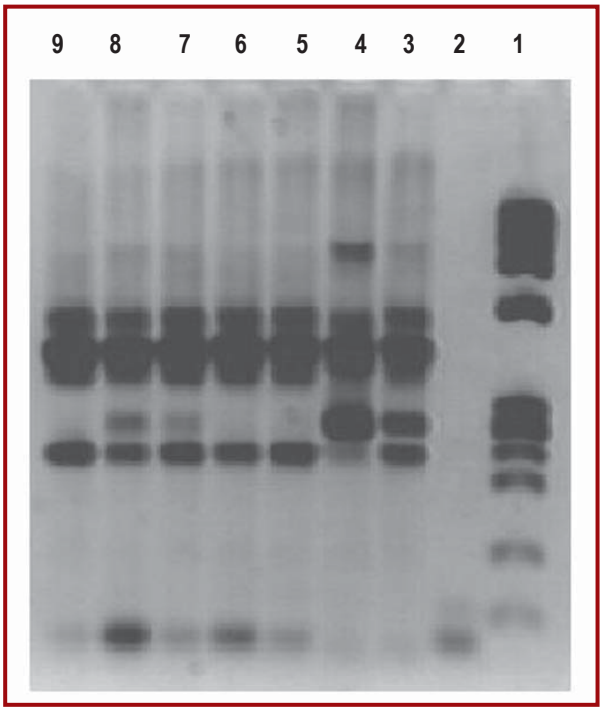
Bir sitoplazmik tirozin kinaz geni olan *Janus kinaz 2 (JAK2)* 9. kromozomun kısa kolunda bulunan bir gendir (2). *JAK2* geninin JH2 domaininde 617. pozisyonda oluşan ve V617F olarak ifade edilen bir mutasyon sitokinlere aşırı duyarlılığa yol açacak şekilde tirozin fosforilasyon aktivitesine yol açar. Bu mutasyona bağlı olarak enzimin fonksiyonel olarak aşırı derecede aktive olması, kan hücrelerinde hematopoetik büyüme faktörlerinin etkisine karşı aşırı duyarlılığa yol açmaktadır. Bu etki bu hastalıklarda ortaya çıkan bir veya birkaç kan hücre serisinin aşırı artışını açıklar niteliktedir. *JAK2 V617F* mutasyonunun PV tanısı alan tüm olgularda, ET ve primer miyelofibrozis tanısı alan olguların ise bazılarında bulunduğu bildirilmektedir. Bu mutasyon bu yönü ile kronik miyeloproliferatif hastalıklar için önemli bir tanı aracı olmaktadır (3).

Miyelodisplastik sendromlar (MDS) displastik ve yetersiz sayıda kan hücrelerinin üretimi ve değişen oranlarda akut lösemiye dönüşüm riski ile karakterize, heterojen bir grup malign kök hücre hastalığıdır (4). Bu hastalıklar kendiliğinden veya mutajenik ajanlara maruziyet sonrasında meydana gelebilmektedir (5).

Çalışmamızda kronik MPH ve MDS'li olgularda *JAK2 V617F* mutasyon sonuçları sunulmakta ve elde edilen bu sonuçlar literatür verileri ile karşılaştırılmaktadır. Çalışma bu hali ile kronik MPH ve MDS'li olgularda *JAK2 V617F* mutasyon sonuçlarını içeren ilk çalışma olmaktadır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma 2008 yılında Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan miyeloid maligniteler sınıflaması ile kronik MPH ve MDS tanısı konulan 22 olgu (yedi PV, üç ET, üç kronik miyelositer lösemi (KML), beş sınıflandırılamayan tip kronik MPH, bir jüvenil miyelomonositik lösemi (JMML) ve üç MDS) ile 10 kontrol olgusunda (yedi sekonder eritrositoz, üç reaktif trombositoz) gerçekleştirildi (6). Olguların yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo I'de görülmektedir. Olgularda periferik kan DNA'ları izole edildi ve tanımlanmış protokol uygulanarak *JAK2 V617F* mutasyon analizi yapıldı (Şekil 1) (7). KML'li olgularda tanı sitogenetik ve/veya FISH analizi ile doğrulandı.



Şekil 1. *JAK2 V617F* mutasyonuna ait jel görüntüleri: 1. sıra; markır (belirteç) ΦX174 Hea III kesimi, 2. sıra; distile su, 3. sıra; kontrol (Heterozigot), 4. sıra; kontrol (Homozigot), 5. ve 6. sıralar; hasta normal, 7 ve 8. sıralar; hasta heterozigot, 9. sıra; hasta normal

Bulgular

Olgulara ait *JAK2 V617F* mutasyonu sonuçları Tablo I'de görülmektedir. Yedi PV'li olgudan altısında (%85.7) mutasyon tespit edilirken, yedi sekonder eritrositoz olgusunun hiçbirisinde mutasyon pozitifliği saptanmadı. Üç ET olgusundan birisinde (%33.3) mutasyon mevcut iken, üç reaktif trombositoz olgusundan hiçbirisinde mutasyon tespit edilmedi. Üç KML olgusundan hiçbirisinde mutasyon bulunmadı. Kemik iliği sitogenetik incelemesi ile Philadelphia kromozomu ve/veya FISH analizi ile bcr-abl tespit edilmeyen; ancak PV, ET veya primer miyelofibrozis olarak da tanımlanamayan beş sınıflandırılamayan tip kronik MPH olgusundan birisinde (%20) *JAK2 V617F* mutasyonu saptandı. Üç MDS'li olgu ile bir JMML'li olguda mutasyon bulunmadı.

Tartışma

JAK2 mutasyonlarının PV'li olguların neredeyse tamamında, ET'li ve primer miyelofibrozisli olguların ise yaklaşık olarak yarısında mevcut olduğunun keşfedilmesi, klasik miyeloproliferatif hastalıklar için halen kullanılmakta olan tanısal kriterlerin dahi yeniden gözden geçirilmesi ihtiyacını ortaya koymuştur (6,8).

Duyarlı yöntemler kullanıldığında PV'li olguların tamamında ekzon 14 veya ekzon 12'de bulunan *JAK2* mutasyonu gözlenir (9,10). Birçok çalışmanın ortak sonucuna göre PV'li olguların %95-97'sinde *JAK2* geninin 14. ekzonunda *V617F* mutasyonu vardır. Bu mutasyon sekonder polisitemili olgularda ve sağlıklı kişilerde bulunmaz. Bu nedenle bu mutasyonun varlığı PV'li olgular ile sekonder polisitemili olguların ayırımı için önemlidir (11,12). Bizim çalışmamızda da yedi PV'li olgudan altısında (%85.7) mutasyon tespit edilirken, yedi sekonder eritrositoz olgusunun hiçbirisinde mutasyon pozitifliği saptanmadı. Bir çalışmada ekzon 14'de *V617F* mutasyonu bulunmayan PV'li 11 olgunun 10'unda *JAK2* geninin 12. ekzonunda dört

Tablo I. Kronik miyeloproliferatif hastalık ve miyelodisplastik sendromlu olguların yaş, cinsiyet dağılımı ve *JAK2 V617F* mutasyonu sonuçları

	Olgu	*Kadın/erkek*	*Yaş (Yıl)**	*JAK2 V617F pozitifliği*
Polisitemia vera	7	3/4	47 (23-59)	6/7 (%85,7)
Sekonder eritrositoz	7	3/4	31 (11-64)	0/7 (%0,0)
Esansiyel trombositemi	3	0/3	23 (20-31)	1/3 (%33,3)
Reaktif trombositoz	3	2/1	55(20-74)	0/3 (%0,0)
Kronik miyelositer lösemi	3	0/3	30 (24-47)	0/3 (%0,0)
Sınıflandırılamayan tip kronik miyeloproliferatif hastalık	5	2/3	37 (14-69)	1/5 (%20,0)
Miyelodisplastik sendrom	3	0/3	30 (24-78)	0/3 (%0,0)
Jüvenil miyelomonositik lösemi	1	0/1	7	0/1 (%0,0)

*: Mediyan ortalama (Alt ve üst sınır)

farklı mutasyon tanımlanmıştır (9). Bu mutasyonlar da 14. ekzondaki *V617F* mutasyonu gibi büyüme faktörlerine duyarlılığa yol açmaktadır. Polisitemia Vera Çalışma Grubu tanı kriterlerini tam olarak karşılayan 114 olguluk bir çalışmada ise ekzon 14 *V617F* mutasyonu 111 olguda (%97) gösterilmiş ve diğer üç hastada da (%3) *JAK2* geni 12. ekzonunda mutasyon bulunmuş olup, bu sonuçlar PV'li hastaların tamamında *JAK2* geninin 14. veya 12. ekzonundaki mutasyonlardan birisinin bulunduğunu desteklemektedir (13,14). Bizim *JAK2 V617F* mutasyonu tespit etmediğimiz PV'li olgumuzda 12. ekzonda mutasyon olma olasılığı yüksek görünmektedir.

Çeşitli çalışmalarda ET'li olgularda *JAK2* mutasyonu sıklığı yaklaşık %50 olarak bildirilmiştir (14-16). Bu mutasyonun varlığı miyeloproliferatif hastalığa bağlı trombositozu reaktif trombositozdan ayırt etmede yararlı iken, ET, PV ve primer miyelofibrozis gibi kronik MPH arasında bir ayırım sağlamamaktadır (18,19). *JAK2* mutasyonu varlığı PV, ET veya primer miyelofibrozis gibi miyeloproliferatif hastalık tanısı için oldukça spesifik olduğu halde, ET'li olguların ancak yarısında vardır ve reaktif trombositozlu olgularda bulunmaz. Bizim çalışmamızda da üç ET olgusundan birisinde (%33.3) mutasyon mevcut iken, üç reaktif trombositoz olgusundan hiçbirisinde mutasyon tespit edilmedi.

Kronik MPH'ın çoğu KML, PV, ET veya primer miyelofibrozis olarak sınıflandırılabildiği halde, bazen sınıflandırma yapabilmek mümkün olmamakta ve bu durum sınıflandırılamayan tip kronik MPH olarak ifade edilmektedir (20). Çalışmamızda kemik iliği sitogenetik incelemesi ile Philadelphia kromozomu ve/veya FISH analizi ile bcr-abl tespit edilmeyen, ancak PV, ET veya primer miyelofibrozis olarak da tanımlanamayan beş sınıflandırılamayan tip kronik MPH olgusundan birisinde (%20) de *JAK2 V617F* mutasyonu saptanmıştır. Ancak bu mutasyonun varlığı veya yokluğu da kronik MPH alt tipleri arasında bir ayırım sağlamamaktadır.

Bir çalışmada 101 MDS'li hastanın %5'inde *JAK2 V617F* mutasyonunun varlığı gösterilmiştir (21). Hematolojik maligniteli 325 olgu ile ilgili bir başka çalışmada da bu bulgular desteklenmiştir (22). Bizim çalışmamızda üç MDS'li olgunun hiçbirisinde bu mutasyon tespit edilmedi.

JMML klinik olarak KMML'yi taklit eden, ancak moleküler olarak farklı olan çocukluk döneminin ölümcül bir hastalığıdır (23). Olgun miyeloid hücrelerin, genellikle de monositlerin aşırı üretimi ile karakterize olup, yol açtığı organ infiltrasyonları ve enfeksiyonlar ile ölüme sebep olur. Çalışmaya dahil ettiğimiz JMML'li olgumuzda sitogenetik analiz ile 45, XY,-7 saptanır iken *JAK2 V617F* mutasyonu tespit edilmedi.

Ülkemizde kronik MPH ve MDS'li hastalarda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Sadece Bayraktar ve ark. portal ven trombozu olan olgularda *JAK2 V617F* mutasyon sonuçlarını çalışarak yayınlamışlardır (24).

Sonuç olarak, *JAK2 V617F* mutasyonunun araştırılması kronik MPH düşünülen olgularda önemli görünmektedir. Bu mutasyonun varlığının gösterilmesi, en azından PV ile sekonder polisitemi arasında ve ET ile reaktif trombositoz arasında ayırıcı tanı yapabilmek açısından önemlidir.

Kaynaklar

1. Mc Lornan DP, Percy MJ, Jones AV, Cross NC, Mc Mullin MF. Chronic neutrophilic leukemia with an associated V617F JAK2 tyrosine kinase mutation. Haematologica 2005; 90: 1696-1697.
2. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, et al. Cancer Genome Project. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. Lancet 2005; 365: 1054-1061.
3. Kaushansky K. The chronic myeloproliferative disorders and mutation of JAK2: Dameshek's 54 year old speculation comes of age. Best Pract Res Clin Haematol 2007; 20: 5-12.
4. Albitar M, Manshouri T, Shen Y, et al. Myelodysplastic syndrome is not merely "preleukemia". Blood 2002; 100: 791-798.
5. Corey SJ, Minden MD, Barber DL, Kantarjian H, Wang JC, Schimmer AD. Myelodysplastic syndromes: the complexity of stem-cell diseases. Nat Rev Cancer 2007; 7: 118-129.
6. Tefferi A, Vardiman JW. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. Leukemia 2008; 22: 14-22.
7. Jones AV, Kreil S, Zoi K, et al. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. Blood 2005; 106: 2162-2168.
8. Nevruz O, Guran S, Beyan C ve ark. Kronik miyelositer lösemi dışı kronik miyeloproliferatif hastalığı olan olgularımızda sitogenetik inceleme sonuçları. Gülhane Tıp Dergisi 2005; 47: 11-13.
9. Scott LM, Tong W, Levine RL, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. N Engl J Med 2007; 356: 459-468.
10. Wang YL, Vandris K, Jones A, et al. JAK2 mutations are present in all cases of polycythemia vera. Leukemia 2008; 22: 1289.
11. Tefferi A, Spivak JL. Polycythemia vera: scientific advances and current practice. Semin Hematol 2005; 42: 206-220.
12. Tefferi A, Sirhan S, Lasho TL, et al. Concomitant neutrophil JAK2 mutation screening and PRV-1 expression analysis in myeloproliferative disorders and secondary polycythaemia. Br J Haematol 2005; 131: 166-171.

13. Scott LM, Beer PA, Bench AJ, Erber WN, Green AR. Prevalance of JAK2 V617F and exon 12 mutations in polycythaemia vera. Br J Haematol 2007; 139: 511-512.
14. Butcher CM, Hahn U, To LB, et al. Two novel JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythaemia vera patients. Leukemia 2008; 22: 870-873.
15. Schafer AI. Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia. Blood 2006; 107: 4214-4222.
16. Campbell PJ, Scott LM, Buck G, et al. United Kingdom Myeloproliferative Disorders Study Group; Medical Research Council Adult Leukaemia Working Party; Australasian Leukaemia and Lymphoma Group. Definition of subtypes of essential thrombocythaemia and relation to polycythaemia vera based on JAK2 V617F mutation status: a prospective study. Lancet 2005; 366: 1945-1953.
17. Gangat N, Wolanskyj AP, McClure RF, et al. Risk stratification for survival and leukemic transformation in essential thrombocythemia: a single institutional study of 605 patients. Leukemia 2007; 21: 270-276.
18. Levine RL, Belisle C, Wadleigh M, et al. X-inactivation-based clonality analysis and quantitative JAK2V617F assessment reveal a strong association between clonality and JAK2V617F in PV but not ET/MMM, and identifies a subset of JAK2V617F-negative ET and MMM patients with clonal hematopoiesis. Blood 2006; 107: 4139-4141.
19. Gale RE, Allen AJ, Nash MJ, Linch DC. Long-term serial analysis of X-chromosome inactivation patterns and JAK2 V617F mutant levels in patients with essential thrombocythemia show that minor mutant-positive clones can remain stable for many years. Blood 2007; 109: 1241-1243.
20. Neuwirtova R, Mocikova K, Musilova J, et al. Mixed myelodysplastic and myeloproliferative syndromes. Leuk Res 1996; 20: 717-726.
21. Steensma DP, Dewald GW, Lasho TL, et al. The JAK2 V617F activating tyrosine kinase mutation is an infrequent event in both "atypical" myeloproliferative disorders and myelodysplastic syndromes. Blood 2005; 106: 1207-1209.
22. Jelinek J, Oki Y, Gharibyan V, et al. JAK2 mutation 1849G>T is rare in acute leukemias but can be found in CMML, Philadelphia chromosome-negative CML, and megakaryocytic leukemia. Blood 2005; 106: 3370-3373.
23. Koike K, Matsuda K. Recent advances in the pathogenesis and management of juvenile myelomonocytic leukaemia. Br J Haematol 2008; 141: 567-575.
24. Bayraktar Y, Harmanci O, Büyükasik Y, et al. JAK2V617F mutation in patients with portal vein thrombosis. Dig Dis Sci 2008; 53: 2778-2783.